مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۳، شماره ۳، سال ۱۳۹۶

# ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*: CMV)

# Evaluation of Resistance of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes to *Cucumber mosaic virus*: CMV

سیدامین انجوی امیری[۱]، محمدرضا بی‌همتا[۲]، ساسان قاسمی[۳]، محمد مجتبی کامل‌منش[۴] و امین افضلی‌فر[۵]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج.
۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، کرج.
۳ و ۴- استادیار، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز.
۵- دانشجوی دکتری گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۷

## چکیده

**انجوی امیری، س. ا.، بی‌همتا، م. ر.، قاسمی، س.، کامل‌منش، م. م. و افضلی‌فر، ا. ۱۳۹۶**. ارزیابی مقاومت ژنوتیپ های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*: CMV). **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۳: ۳۹۹-۳۷۳**.

**به منظور ارزیابی مقاومت برخی از ژنوتیپ‌های لوبیا به بیماری ویروسی موزائیک خیار (CMV) آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز انجام شد. چهل و نه ژنوتیپ مختلف لوبیا از گروه‌های لوبیا قرمز، لوبیا چیتی و لوبیا سفید در قالب طرح مربع لاتیس با دو تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. ویروس موردنظر از مزارع لوبیا سبز در شیراز جمع‌آوزی، خالص‌سازی و با آزمون الایزا تائید شد. ویروس خالص شده روی گیاهچه‌های رقم حساس لوبیا تکثیر و به صورت مکانیکی با پودر کاربوراندوم برای آلوده‌سازی ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در این بررسی درصد آلودگی ظاهری، درصد آلودگی واقعی (با آزمون الایزا) و میزان کلروفیل و سطح برگ ژنوتیپ‌ها اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، ژنوتیپ‌های لوبیا قرمز کمترین مقاومت را به این بیماری نشان دادند. همبستگی بالائی بین صفات مورد ارزیابی مشاهده شد که حاکی از تأثیر مثبت ویروس بر دستگاه فتوسنتزی و متعاقب آن تأثیر غیرمستقیم بر درصد آلودگی بود. براساس واکنش به ویروس، ژنوتیپ‌ها به چهار گروه مقاوم، نیمه‌مقاوم، نیمه حساس و حساس گروه‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های Dehghan، Cardinal، Ks 41125، Ks 21191، Ks 21414، Ks 31137 و Capsoli به ترتیب بالاترین سطح مقاومت را داشتند.**

**واژه‌های کلیدی: لوبیا، ژنوتیپ‌ها، ویروس موزائیک خیار، آزمون الایزا.**

نویسنده مسئول: ghanadha@ut.ac.ir تلفن: ۰۲۶۳۲۲۴۶۰۷۴

**مقدمه**

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از مهم‌ترین حبوبات خوراکی ایران و جهان (Broughton *et al.,* 2004)؛ از جمله بسیاری از بخش‌های آفریقا، آسیا و آمریکای لاتین بوده و به دلیل مقدار پروتئین زیاد به عنوان منبع اولیه ماده غذایی برای میلیون‌ها نفر محسوب می‌شود (Hall, 1991) که سهم عمده‌ای در رژیم غذایی انسان دارد و تأمین کننده بخش مهمی از پروتئین مورد نیاز انسان است. علاوه بر رژیم غذایی انسان، بقولات برای تغذیه حیوانات و تولید صنعتی اسید سیتریک نیز استفاده می‌شوند (Todorovic *et al.,* 2008). مقدار پروتئین حبوبات حدود ۲ تا ۴ برابر غلات و ۱۰ تا ۲۰ برابر گیاهان غده‌ای است. بر اساس آمار موجود، سطح زیر کشت حبوبات در ایران در حدود ۱۰۷۴۱۵ هکتار بوده و مجموع تولید آن در حدود ۲۲۹۹۴۱ تن دانه است (Anonymous, 2016). غالباً کاهش عملکرد در لوبیا، به اثر آن بر اجزای عملکرد از جمله تعداد نیام در گیاه، تعداد دانه در نیام و غیره نسبت داده می‌شود (Gebeyehu, 2006).

بقولات همانند دیگر گیاهان زراعی مورد حمله بیماری‌های مختلف ویروسی، قارچی و باکتریایی قرار می‌گیرند (Graham and Vance, 2003). لوبیا میزبان تعداد زیادی از عوامل بیماریزای ویروسی (Hall, 1991 ;Etebarian, 2002) است و مهم‌ترین ویروس‌هایی که به این گیاه خسارت می‌زنند *Bean common mosaic virus:* BCMV، *Bean yellow mosaic virus:* BYMV، *Cucumber mosaic virus:* CMV، *Southern bean mosaic virus:*SBMV و *Tobacco streak virus:* TAV و BCMNV هستند.

تمام این ویروس‌ها برای ایجاد بیماری و خسارت گیاه زراعی دارای پتانسیل مطلوب هستند اما شیوع آن‌ها بستگی به وجود ناقل‌ها، نوع رقم و زمان بسیار مهم آلودگی دارد (Spence and Walkey, 1995). ویروس موزائیک خیار، یک گونه از جنس *Cucumovirus* در خانواده *Bromoviridae* است که یکی از رایج‌ترین ویروس‌های گیاهی شناخته شده است که بیش از ۱۳۰۰ گونه را در سرتاسر جهان آلوده می‌کند (Garcı´a-Arenal and Palukaitis, 2008). ویروس موزائیک خیار (CMV) برای اولین بار در سال ۱۹۴۱ به عنوان یک عامل بیماریزا روی لوبیا معمولی مشاهده شده است. سویه‌ای از این ویروس به نام سویه لوبیا (CMV-B) از منطقه نیویورک و مهم‌تر از آن سویه بقولات (CMV-Le) از ژاپن، توانائی تولید بیماری‌های مخربی را روی بسیاری از ارقام لوبیا دارند. این ویروس بزرگ‌ترین دامنه میزبانی را نسبت به سایر ویروس‌های گیاهی به خود اختصاص داده و تعداد گونه‌های گیاهی که به عنوان میزبان این

ویروس شناسایی شده‌اند در ۶۰ سال اخیر مرتباً رو به افزایش بوده است (Galitelli, 2000؛ Palukaitis *et al.*, 1992).

ویروس موزائیک خیار ویروسی است چندجزئی که از سه RNA تک رشته‌ای ژنومی تشکیل شده است که هرکدام از آن‌ها به طور تکی در یک ذره با قطر ۲۸ نانومتر قرار می‌گیرند. این بیماری به وسیله شته‌ها به صورت ناپایا منتقل می‌شود (Gildow *et al.*, 2008؛ Tomlinson and Karter, 1970؛ Yang *et al.*, 1997). از دیگر راه‌های انتقال این ویروس به صورت مکانیکی می‌باشد که بیشتر برمبنای عدم رعایت نکات اساسی توسط کارگران و یا استفاده از ماشین‌ها و ابزارهای آلوده به این ویروس رخ می‌دهد. انتقال بذری CMV در ارقام حساس لوبیا بیش از ۴۹٪ است (Davis and Hampton, 1986) و در بذر برای حدود ۲۷ ماه در طول ذخیره‌سازی باقی می‌ماند (Bos and Matt, 1974). نژادهای CMV در ابتدا عمدتاً براساس دامنه میزبانی، علائم، ناقلین، خصوصیات سرولوژیکی و توالی اسید هسته‌ای (Palukaitis *et al.*, 1992) مشخص می‌شدند اما درحال حاضر به دو گروه اصلی (زیرگروه ۱ و زیرگروه ۲) براساس تشابهات سرولوژیکی و توالی تقسیم می‌شوند (Hong *et al.*, 2007).

خسارت به وجود آمده از حمله ویروس‌های بیماریزا در درجه اول به شکل کاهش عملکرد، کیفیت محصول و درنهایت از بین رفتن گیاهان آلوده است (Garcı´a-Arenal and Palukaitis, 2008؛ Palukaitis *et al.*, 1992). میزان افت عملکرد گیاه می‌شود، به طوری که در سال ۱۹۷۸ در آمریکا به میزان ۱۴٪ به محصول لوبیا خسارت وارد کرد (Pio-Riberio *et al.*, 1978). از علائم ناشی از CMV می‌توان به روخمشی بارز برگ که منجر به موزائیک می‌شود، پیچیدگی برگ، پیسک سبز یا سبز-زرد، تاول، رگه نواری سبز تیره و چین دار زیپ مانند در امتداد رگبرگ اصلی اشاره کرد (Kostova *et al.*, 2007؛ Taiwo *et al.*, 2001). روش‌های کنترل CMV نیز مانند ویروس‌های گیاهی دیگر گوناگون است، که از جمله آن‌ها می‌توان از روش‌های تکثیر منابع عاری از ویروس، از بین بردن گیاهان آلوده، جلوگیری از فعالیت ناقلین و استفاده از ارقام مقاوم یاد کرد. اما به دلیل دامنه میزبانی گسترده CMV (Edwardson and Christie, 1991)، فراوانی انتقال از طریق بیش از ۸۰ گونه شته (Palukaitis *et al.*, 1992؛ Edwardson and Christie, 1991) و شکسته شدن منابع ژنتیکی مقاومت به CMV توسط نژادهای جدید (Palukaitis *et al.*, 1992)، نمی‌توان CMV را مانند ویروس‌های دیگر به طور مؤثر کنترل کرد. کنترل شته‌های انتقال دهنده ویروس‌های لوبیا به وسیله حشره کش ها کاربردی نیست، به طوری که شته‌ها چرخه زندگی خود را در گیاهان دیگر از قبیل یونجه،

کاهو، کرفس کامل می‌کنند (Nault *et al.,* 2004؛ Rist and Lorbeer, 1991؛ Bruckart and Lorbeer, 1976). تنها راه حل کاربردی برای این مساله ترکیب مقاومت گیاه میزبان (لوبیا) است، بنابراین نیاز به ارزیابی ارقام مقاوم لوبیا برای غلبه بر این مشکل بیماری است. ژن *RT4-4*، یک ژن مقاومت شناسایی شده در رقم Othello لوبیای معمولی است که نشان دهنده مقاومت به ویروس موزائیک کوتولگی لوبیا بود (Wang *et al.,* 1999) و همچنین نشان داد که این ژن عامل مقاومت به ویروس‌های دیگری همانند CMV است (Seo *et al.,* 2006). تعدادی از ژن‌های دیگر مقاوم به CMV در دیگر گونه‌ها شناسایی شدند. *Ncm-1*، یک ژن مقاومت غالب در گونه‌های lupin شناسایی شده است (Jones and Latham, 1996)، *RCY1*، یک ژن غالب یافت شده در اکوتیپ C24 گیاه *Arabidopsis thaliana*، عامل مقاومت به یک نژاد زرد از CMV است (Takahashi *et al.,* 2002).

به دلیل اهمیت این موضوع و عدم وجود تحقیقات مورد نیاز در این زمینه، پژوهش حاضر به منظور دستیابی به اهداف زیر انجام شد: ارزیابی مقاومت ژنوتیپ های مختلف لوبیا به ویروس موزائیک خیار (CMV)، مقایسه مقاومت و حساسیت به این ویروس بین ژنوتیپ های لوبیا قرمز، سفید و چیتی و بررسی تأثیرپذیری صفات مورفولوژیک لوبیا از ویروس موزائیک خیار (CMV).

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد شیراز انجام شد. برای نجام این تحقیق، ۴۹ ژنوتیپ لوبیا از انواع مختلف لوبیا قرمز (۹ رقم و ۶ لاین)، لوبیا چیتی (۱۳ رقم و ۷ لاین) و لوبیا سفید (۹ رقم و ۵ لاین) از ایستگاه تحقیقات لوبیا واقع در خمین دریافت و مورد مطالعه قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح مربع لاتیس پیاده شد، که پس از محاسبه سودمندی نسبی، محاسبات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴۹ تیمار (ژنوتیپ) و دو تکرار انجام شد. هر کرت آزمایش از دو گلدان با قطر دهانه ۵ سانتی‌متر با نسبت ۱:۱ خاک و کود (خاک برگ) تشکیل می‌شد که هر گلدان شامل پانزده بذر از ژنوتیپ مربوطه بود. در هرگلدان پس از سبز شدن بوته‌ها تعداد آنها با تنک کردن به ده بوته کاهش یافت. به منظور ایجاد شرایط ایده‌آل در گلخانه از پنکه‌های مکشی برای کاستن رطوبت هوا، کولر برای کاهش دمای هوا و حصیر برای تنظیم میزان نور لازم استفاده شد. همچنین درجه حرارت بین ۲۱-۲۳ درجه سانتی گراد و رژیم نوری هشت ساعت تاریکی و شانزده ساعت روشنایی تنظیم شد.

**تهیه خالص‌سازی و تکثیر ویروس و نحوه آلوده‌سازی**

از مزارع لوبیا سبز ظفرآباد واقع در پشت فرودگاه شیراز، ویروس CMV از بوته‌های آلوده، ضمن اطمینان از آلوده بودن به ویروس موردنظر (از طریق علائم مربوط به ویروس موزائیک خیار) شناسائی شد. از هر بوته به صورت جداگانه برگ‌ها جدا و درون پلاستیک انتقال داده شد و روی پلاستیک‌ها شماره مربوطه یادداشت شد. نمونه‌ها به صورت جداگانه عصاره گیری شدند و سپس میزان آلودگی آن‌ها از طریق آزمون PTA- ELISA با استفاده از آنتی سرم پلی کلونال CMV مورد اندازه گیری قرار گرفت و نمونه شماره ۶ که بیشترین میزان جذب نوری را از طریق دستگاه ELISA-Reader داشت، برای آلوده‌سازی نمونه‌ها انتخاب شد. این ویروس پس از خالص‌سازی بیولوژیکی از طریق استفاده از میزبان لکه موضعی روی *Chenopodium quinoa* برای تکثیر به صورت مکانیکی به گیاهچه‌های حساس لوبیا در مرحله دو برگی مایه‌زنی شد. خلوص ویروس با استفاده از آنتی سرم مربوطه (اهدایی دکتر L. Torrance از SCRI) تأیید شد. این آنتی سرم از واکنش سویه LW ویروس CMV ساخته شده است که L مربوط به Lupin و W مربوط به منطقه Wandoo در استرالیا است که این ویروس از آن‌جا گرفته شده است. این آنتی سرم به سویه‌های LS و FNY از ویروس CMV واکنش نشان می‌دهد.

**ارزیابی آلودگی ظاهری**

بیست و یک روز بعد از مایه‌زنی مکانیکی برگ‌های هر کرت به منظور اندازه‌گیری آلودگی ظاهری ارزیابی شد و اعداد مربوطه یادداشت شد. برای این کار از فرمول زیر استفاده شد. این فرمول برای هر کرت به طور جداگانه مورد استفاده قرار گرفت:

۱۰۰ × (تعداد کل بوته‌ها / تعداد بوته‌های آلوده)= درصد آلودگی ظاهری

ضمناً معیار آلودگی هر بوته، مشاهده علائم موزائیک بود. به دلیل این‌که در هر کرت دو گلدان در نظر گرفته شده بود، از درصد آلودگی دو گلدان هر کرت، میانگین گرفته و عدد حاصله به عنوان درصد آلودگی آن کرت در نظر گرفته شد.

**ارزیابی کلروفیل و سطح برگ**

در این آزمایش میزان کلروفیل برگ هر نمونه با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل همین نمونه‌ها، با استفاده از دستگاه هنساتک (Hansatech) مدل CL-01 نیز اندازه‌گیری شد. چون اعداد حاصله از دو دستگاه برای هر نمونه (به طور مجزا) همبستگی

بالایی داشتند، تمام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هنساتک اندازه‌گیری شد. برای این منظور، از هر بوته هر تکرار به طور تصادفی دو برگ انتخاب و از چهار قسمت مختلف هر برگ اندازه‌گیری انجام شد. سپس از هشت عدد مربوط به هر بوته میانگین گرفته و عدد به دست آمده به عنوان میزان کلروفیل بوته مربوطه ثبت شد.

از طرفی چون احتمال این موضوع وجود داشت که با حمله ویروس به برگ گیاه، رشد برگ گیاه محدود شود. بنابراین سطح برگ هر نمونه نیز با استفاده از کاغذ شطرنجی اندازه‌گیری شد. برای انجام این کار از هر کرت ده برگ به صورت تصادفی انتخاب و در نهایت با میانگین گرفتن از این اعداد، عدد مربوط به کرت موردنظر ثبت شد.

**تهیه و تکثیر ویروس و نحوه آلوده‌سازی**

ویروس مورد نظر از مزارع لوبیای سبز شیراز جداسازی و پس از خالص سازی بیولوژیکی جهت تکثیر به صورت مکانیکی به گیاهچه های حساس لوبیا در مرحله دوبرگی مایه زنی شد. خلوص ویروس با استفاده از آنتی سرم مربوطه (اهدایی دکتر Lesley Torrance از موسسه تحقیقات زراعی اسکاتلند SCRI) تائید شد. آلوده سازی هفده روز پس از کاشت در دو مرحله (برای اطمینان بیشتر) به فاصله یک هفته به صورت مکانیکی و با استفاده از پودر کاربوراندوم انجام شد.

**تعیین درصد آلودگی با آزمون الایزا (آلودگی واقعی)**

برای تعیین درصد آلودگی واقعی با استفاده از آزمون الایزا از روش PTA-ELISA استفاده شد. این روش با استفاده از روش داوسون و مووات (۱۹۸۷) و با استفاده از بافرهای آنتی ژن، بافر (10X) PBS- (Phosphate Buffer Salin)، بافر شستشو PBS-T (Phosphate Buffer Salin-Tween)، بافر PBS-TPM و بافر زمینه (Substrate Buffer) انجام شد. این آزمون به ترتیب براساس مراحل عصاره‌گیری، طراحی نقشه پلیت الایزا و لود کردن پلیت، شستشو و خشک کردن، لود کردن آنتی بادی اختصاصی CMV، لود کردن Anti Rabbit Conjugated و در نهایت لود کردن ماده زمینه (سوبسترا) منتج به داده‌های بیماریزایی روی نمونه‌های گیاهی شد. تعداد نمونه ارزیابی شده برای هر ژنوتیپ شانزده عدد بود (هر ژنوتیپ دارای دو تکرار و از هر تکرار چهار نمونه و هر نمونه در دو چاهک). پس از ثبت میزان جذب نور چاهک‌های پلیت توسط دستگاه الایزا ریدر، میانگین جذب نور شش چاهک شاهد (نمونه‌های شاهد) محاسبه شد. نمونه‌هایی که جذب نور بیش از میانگین شاهد به علاوه سه برابر انحراف معیار (نمونه‌های شاهد) داشتند به عنوان نمونه‌های مثبت و آن‌هایی که کمتر از این میزان جذب نور داشتند به عنوان نمونه‌های منفی ثبت شدند. تجزیه داده‌ها با استفاده از

نرم‌افزارهای SPSS و SAS انجام شد.

## نتایج و بحث

نام و منشاء و نوع ارقام و لاین‌های لوبیای مورد بررسی در این تحقیق در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس ساده بر روی صفات مورد ارزیابی در این آزمایش نشان داد (جدول ۲) که ژنوتیپ‌ها برای تمامی صفات به جزء سطح برگ قبل از آلودگی در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار داشتند. این موضوع نشان دهنده تنوع زیاد در بین ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی است. با توجه به این که آلودگی مصنوعی توسط ویروس موزائیک خیار در مرحله دو برگی (V2) انجام شد، بنابراین این گونه استنباط می‌شود که معنی‌دار شدن اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در مرحله سه برگی (V3) در شرایط آلودگی و عدم معنی‌دار شدن آن‌ها در شرایط بدون آلودگی در این مرحله شاید به دلیل شوک و تنش ابتدایی وارد شده به وسیله ویروس باشد که واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها را در شرایط آلودگی به همراه داشته است. این نتیجه مطابق با نتایج کامل‌منش (Kamelmanesh, 2006) بود. با مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها (جدول ۳) مشاهده شد که تأثیر CMV بر ژنوتیپ‌های، Cardinal، Capsoli و Local Khomein نتایج مشابهی را با تحقیق مهربان و همکاران (Mehraban *et al.,* 2003) داشت. مشاهده نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌های صفات مورفولوژیک در دو شرایط آزمایش (نتایج نشان داده نشده است) به خوبی نشان‌دهنده این مطلب بود که هر ژنوتیپ نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر متفاوت بود، این موضوع به دو دلیل بدیهی است: اول این که ژنوتیپ‌ها از سه نوع رنگ نوع لوبیا و دارای تنوع بالایی بودند. تنوع ژنتیکی برای مقاومت به بیمارگر به طور معمول در جمعیت‌های گیاهی یافت می‌شود (Liu and Ekramoddoullah, 2003؛ Koskela *et al.,* 2002؛ Thrall *et al.,* 2001؛ Chiang *et al.,* 2002؛ Morrison, 1996) گرچه این موضوع ممکن است جامعیت نداشته باشد (Simms and Triplett, 1994).

عوامل بسیار زیادی وجود دارند که در لوبیا بر حفظ تنوع ژنتیکی مقاومت اثر دارند. یکی از این عوامل تفاوت مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف در مقابل ویروس موزائیک خیار است، چون هر ژنوتیپ ممکن است دارای ژن‌های مقاومت خاص و منحصر به فرد و یا فاقد ژن مقاومت باشند. این موضوع با تحقیقی که روی بیماری‌های BCMV و BCMNV انجام شده بود نشان داده شد که بیماری BCMV در گیاهانی که دارای ژن غالب I بودند سبب حساسیت به دما، فوق حساسیت و اغلب باعث نکروز مرگبار در گیاه می‌شد (Mavric and Sustar-Vozlic, 2004؛ Collmer *et al.,* 2000)، در حالی که BCMNV فقط باعث ایجاد علائم موزائیک در

جدول ۱- ارقام و لاین‌های لوبیا مورد مطالعه در این تحقیق، همراه با مبدأ و نوع آن‌ها

Table 1. Bean cultivars and lines studied in the present investigation together with their origin and type

| شماره ژنوتیپ Genotype No. | نام ژنوتیپ Genotype name | | مبداء Origin | | نوع Type | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Capsoli | کپسولی | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Kidney-bean | قرمز |
| 2 | Naz | ناز | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Kidney-bean | قرمز |
| 3 | Derakhshan | درخشان | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 4 | Sayyad | صیاد | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 5 | Akhtar | اختر | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 6 | Keshavarz | کشاورز | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Kidney-bean | قرمز |
| 7 | Goli | گلی | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Kidney-bean | قرمز |
| 8 | D81083 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 9 | A195 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 10 | Ks 31107 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 11 | Ks 31125 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 12 | Ks 31128 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 13 | Ks 31131 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 14 | Ks 31137 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 15 | AND-1007 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Kidney-bean | قرمز |
| 16 | Dehghan | دهقان | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Mung-bean | سفید |
| 17 | Daneshkadeh | دانشکده | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Mung-bean | سفید |
| 18 | Sadaf | صدف | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Mung-bean | سفید |
| 19 | G5710 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 20 | Cifem cabe | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 21 | 74 Emerson | امرسون ۷۴ | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 22 | Wa4502-1 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 23 | G11867 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 24 | Jules | جولز | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 25 | KS 41124 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 26 | KS 41125 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 27 | KS 41126 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 28 | KS 41128 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Mung-bean | سفید |
| 29 | 11805 | | Turkey | ترکیه | Mung-bean | سفید |
| 30 | Local Ahar | بومی احر | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 31 | Local Aligoudarz | بومی الیگودرز | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 32 | Talash | تلاش | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 33 | Khomein-5 | خمین-۵ | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 34 | Local Khomein | بومی خمین | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 35 | Ghalaf Sefide sarab | غلاف سفید سراب | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 36 | Khomein-2 | خمین- ۲ | Breed in Iran | اصلاح شده در ایران | Chiti-bean | چیتی |
| 37 | Cos16 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 38 | G 14088 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 39 | Cardinal | کاردینال | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 40 | G 01437 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 41 | Tay107 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 42 | Pinto | پینتو | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 43 | Ks 21193 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 44 | KS 21371 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 45 | KS 21383 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 46 | KS 21470 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 47 | KS 21481 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 48 | Ks 21414 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |
| 49 | Ks 21191 | | CIAT (Columbia) | سیات (کلمبیا) | Chiti-bean | چیتی |

جدول ۲- تجزیه واریانس ساده صفات ژنوتیپ‌های لوبیا در اثر آلودگی به ویروس موزائیک خیار

Table 2. Simple ANOVA of traits of bean genotypes infected by *Cucumber mosaic virus*

| | | | MS میانگین مربعات | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S.O.V. | منبع تغییرات | درجه آزادی df. | آلودگی واقعی Real infection | آلودگی ظاهری Apparent infection | سطح برگ آلوده Infected leaf area | میزان کلروفیل Chlorophyll content | سطح برگ شاهد Control leaf area | میزان کلروفیل شاهد Control chlorophyll contents |
| Replication | تکرار | 1 | 0.076 | 0.006 | 5.578 | 2.173 | 12.049 | 0.176 |
| Treatment | تیمار | 48 | 0.188** | 0.136** | 28.704** | 1.894** | 45.170** | 2.951 |
| Error | خطا | 48 | 0.027 | 0.009 | 8.459 | 0.449 | 5.965 | 4.034 |
| Total | کل | 97 | | | | | | |
| CV% | درصد ضریب تغییرات | | 19.190 | 12.280 | 7.430 | 17.090 | 22.950 | 22.780 |

**: معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱.

**: Significant of 1% level of probability.

جدول ۳- میانگین میزان کلروفیل و سطح برگ ژنوتیپ های لوبیا در تیمارهای آلوده و بدون آلودگی به ویروس موزائیک و درصد کاهش این صفات

Table 3. Mean chlorophyll contens and leaf area of bean genotypes in infected and non-infected treatments with *Cucumber mosaic virus* and decrease percentage of these traits

| | | Traits mean میانگین صفات | | |
|---|---|---|---|---|
| Trait | صفت | درصد کاهش Percentage of decrease | با آلودگی With infection | بدون آلودگی Without infection |
| Chlorophyll content | میزان کلروفیل | 32.97 | 4.29 | 6.40 |
| Leaf area | سطح برگ | 18.80 | 12.01 | 14.79 |

ارقام لوبیای حساس شده بود اما توانست نکروز را در ارقام با ژن غالب I در دمای بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد القاء کند (Mavric and Sustar-Vozlic, 2004). کامل‌منش (Kamelmanesh, 2009) با تحقیق روی وراثت‌پذیری و نحوه عمل ژن دخیل در مقاومت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا در چهار تلاقی بین ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا قرمز در نتیجه تجزیه میانگین نسل‌ها و تجزیه واریانس نسل‌ها دریافتند که اجزای افزایشی و اپیستازی در صفت مقاومت به BCMV تأثیر دارد، که معنی‌دار شدن اثر اپیستازی و تخمین ژن‌های در حال تفرق در والدین نشان‌دهنده این بود که بیش از یک ژن در کنترل این وضعیت در این تلاقی‌ها دخالت داشته است. همچنین تحقیق روی ژنتیک آلودگی CMV در ارقام کلم نشان داد که در توارث مقاومت حداقل دو لوسای با اثر مستقیم و تعداد چند لوسای با اثر غیرمستقیم دخیل بوده و روی سرعت رشد و قدرت بقای کلی کلم تأثیر می‌گذارد (Pink, 1987).

با توجه به درصد کاهش صفات در اثر آلودگی CMV در تمامی ژنوتیپ‌ها (جدول ۳) مشخص شد که دو صفت میزان کلروفیل و سطح برگ پس از آلودگی دارای کاهش بوده و ویروس موزائیک خیار میزان کلروفیل را نسبت به میزان سطح برگ بیشتر تحت تأثیر قرار داده است.

از آن‌جایی که عدم تعادل در فرایندها و اعمال فیزیولوژیک گیاه در نهایت سبب کاهش کیفی و کمی محصول می‌شود و با توجه به این که کلروفیل و سطح برگ گیاه دو عامل اساسی در تولید فرآورده‌های گیاهی هستند، این میزان تغییر در کلروفیل و سطح برگ به راحتی می‌تواند به صورت مستقیم عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. با توجه به شرایط کنترل شده آزمایش می‌توان به این نکته پی برد که در شرایط مزرعه و در صورت انتشار این بیماری خسارت قابل توجهی به محصول وارد خواهد شد. میشل و همکاران (Michelle *et al.,* 2007) با بررسی روی یک جمعیت RIL از ۱۳۱ خانواده $F_3$ لوبیا سبز مشاهده کردند که CMV و *Clovr yellow vein virus* (CYVV) مهم‌ترین عوامل ضرر و زیان‌های اقتصادی مربوط به کیفیت غلاف از جمله ناهنجاری‌های غلاف و نکروز درونی و بیرونی غلاف هستند، همچنین نقش مهم این ویروس‌ها بر گیاه توسط لارسن و همکاران (Larsen *et al.,* 2008)، جرمن و همکاران (German *et al.,* 2004) و گراو و همکاران (Grau *et al.,* 2001) در مورد ویروس‌های *Alfalfa mosaic virus* (AMV)، CMV، CYVV در لوبیا نیز تائید شده است. همیدا (Hemida, 2005) در بررسی بیماری BYMV روی چند ژنوتیپ *V. faba* و *P. vulgaris* مشاهده کردند آلودگی در *P. vulgaris* سبب تشکیل مکانیسم‌های دفاعی زیر می‌شود: ۱) رنگدانه‌ها و کربوهیدرات‌ها به

صورت موازی نسبت به همدیگر، با گذشت زمان کاهش داشتند ۲) کلروفیل b، کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدهای آزاد در زمان حفظ محتوای پروتئین افزایش داشتند. بنابراین مکانیسم‌های دفاعی گیاه درمقابل آلودگی ویروسی به نظر به پروتئین‌ها و برخی بر گسترش یافتن اسیدهای آمینه وابسته است. اسری و استاوا و همکاران (Srivastava *et al.,* 2005) تائید کرد که فوق حساسیت به آلودگی ویروسی در فلفل منجر به تجمع حداقل سه ترکیب پروتئینی محلول در بافت برگ‌ها شد. کاهش محتوای کلروفیل در بسیاری از گیاهان آلوده شده با ویروس‌های مختلف نیز گزارش شده است (Arora, 2009؛ Pineda, 2008؛ Pandey and Joshi, 1989؛ Funayama, 2006).

نتایج به دست آمده از درصد تغییرات صفت سطح برگ (جدول‌های ۴ و ۵) نشان داد زمانی که ویروس به گیاه وارد می‌شود ابتدا برگ‌های ژنوتیپ های حساس را تحت تأثیر قرار داده و رشد آن‌ها را نسبتاً یا کلاً متوقف می‌کند. کاهش سطح برگ به منزله کاهش جذب نور تلقی می‌شود، در نتیجه میزان فتوسنتز کاهش یافته و با توجه به این که گیاه در چه مرحله‌ای از رشد، گیاه به ویروس آلوده شده است، میزان خسارت وارد شده متفاوت اسعت. پس ژنوتیپ‌های با تغییرات بیشتر دارای حساسیت بیشتر به این ویروس هستند، از این رو در مطالعات آتی می‌توان ژنوتیپ‌هایی را که دارای بیشترین تغییرات باشند را برای تکثیر و خالص‌سازی ویروس و ژنوتیپ‌هایی که کمترین تغییرات را داشتند را برای پروژه‌های به‌نژادی و انتقال ژن مقاومت به بیماری مورد استفاده قرار داد.

بر اساس نتایج جدول ۶ ژنوتیپ‌های شماره ۵، ۶، ۸، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۰، ۲۲، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۳۲، ۳۳، ۳۵، ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۵ و ۴۸ بیشترین میزان آلودگی ظاهری (۱۰۰٪) را دارا بودند که در میان آن‌ها ارقام Keshavarz، Akhtar، Pinto، Ks 31107 و Sayyad نیز وجود داشت و به عبارتی مقاومت این ژنوتیپ‌ها به CMV بسیار پائین بود. چهار ژنوتیپ از پنج ژنوتیپ نامبرده شده در گروه لوبیا قرمز قرار داشتند، پس می‌توان به حساسیت بالای ژنوتیپ‌های لوبیا قرمز به ویروس موزائیک خیار پی برد. همچنین می‌توان استنباط کرد که لوبیا قرمز مورد بررسی دارای حساسیت بالاتری نسبت به دو نوع دیگر لوبیا بودند.

با توجه به نتایج تجزیه همبستگی بین صفات (جدول‌های ۷ و ۸) تمام صفات مورد ارزیابی دارای همبستگی معنی دار بودند که حاکی از این است که با حضور ویروس در داخل گیاه، سیستم فتوسنتز و سیستم تکثیر سلول‌های برگ مورد تهاجم ویروس قرار گرفته بودند. همبستگی صفت میزان افت کلروفیل و میزان افت سطح برگ بسیار بالا بود. این موضوع به خوبی بیانگر رابطه موجود بین این دو صفت است و به عبارت دیگر هرچه میزان سطح برگ

جدول ۴- درصد تغییرات میزان سطح برگ در ارقام و لاین های مختلف لوبیا در اثر آلودگی با CMV

Table 4. Variation percentage of leaf area in different cultivars and lines of bean with CMV infection

| شماره ژنوتیپ Genotype No. | نام ژنوتیپ Genotype name | بدون آلودگی Without infection | با آلودگی With infection | درصد تغییرات Variation percentage | شماره ژنوتیپ Genotype No. | نام ژنوتیپ Genotype name | بدون آلودگی Without infection | با آلودگی With infection | درصد تغییرات Variation percentage |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | D81083 | 12.56 | 9.47 | 24.60 | 26 | KS 21470 | 13.03 | 8.05 | 38.22 |
| 2 | Daneshkadeh | 13.24 | 10.99 | 16.99 | 27 | Ks 31137 | 15.03 | 13.89 | 7.58 |
| 3 | KS 21481 | 17.07 | 15.68 | 8.14 | 28 | Cardinal | 7.67 | 7.37 | 3.91 |
| 4 | Cifem cabe | 10.04 | 8.35 | 16.83 | 29 | KS 41126 | 18.40 | 16.51 | 10.27 |
| 5 | Sayyad | 12.75 | 8.53 | 33.10 | 30 | Tay107 | 18.27 | 16.15 | 11.60 |
| 6 | Pinto | 20.92 | 16.93 | 19.07 | 31 | Sadaf | 11.65 | 9.61 | 17.15 |
| 7 | G 01437 | 14.97 | 13.30 | 11.16 | 32 | Ks 31107 | 8.69 | 6.43 | 26.01 |
| 8 | Khomein-2 | 17.37 | 15.09 | 13.13 | 33 | KS 41124 | 13.52 | 9.68 | 28.40 |
| 9 | G 14088 | 18.24 | 17.61 | 3.45 | 34 | KS 21371 | 12.19 | 9.32 | 23.54 |
| 10 | Jules | 14.82 | 11.06 | 25.37 | 35 | Khomein-5 | 14.95 | 12.05 | 19.40 |
| 11 | Akhtar | 18.37 | 12.13 | 33.97 | 36 | Local Ahar | 16.91 | 14.98 | 11.41 |
| 12 | Ks 21193 | 10.26 | 9.43 | 8.09 | 37 | Talash | 12.47 | 11.43 | 7.86 |
| 13 | Ks 31131 | 13.27 | 9.46 | 12.71 | 38 | AND-1007 | 12.76 | 11.73 | 8.07 |
| 14 | Ghalaf sefide sarab | 18.06 | 15.84 | 12.29 | 39 | KS 41125 | 10.66 | 9.44 | 11.44 |
| 15 | 11805 | 18.97 | 15.68 | 17.34 | 40 | Ks 31128 | 19.82 | 17.14 | 13.52 |
| 16 | Ks 21414 | 10.92 | 10.58 | 3.11 | 41 | Cos16 | 26.70 | 8.87 | 36.79 |
| 17 | Ks 31125 | 8.38 | 7.55 | 9.90 | 42 | Keshavarz | 26.37 | 11.23 | 57.41 |
| 18 | Capsoli | 10.96 | 9.74 | 11.13 | 43 | G5710 | 20.44 | 17.13 | 16.19 |
| 19 | Ks 21191 | 10.82 | 9.03 | 16.54 | 44 | Dehghan | 8.63 | 6.46 | 25.14 |
| 20 | Wa4502-1 | 7.14 | 5.49 | 23.11 | 45 | Goli | 21.06 | 16.59 | 21.23 |
| 21 | Local Aligoudarz | 13.17 | 11.45 | 13.06 | 46 | Derakhshan | 15.57 | 13.66 | 12.23 |
| 22 | KS 21383 | 11.94 | 9.74 | 18.43 | 47 | KS 41128 | 4.21 | 2.67 | 16.82 |
| 23 | G11867 | 18.27 | 16.50 | 9.69 | 48 | Naz | 17.27 | 14.13 | 18.18 |
| 24 | A195 | 22.41 | 19.61 | 12.49 | 49 | Local Khomein | 17.25 | 14.28 | 28.81 |
| 25 | 74 Emerson | 17.27 | 15.15 | 12.28 | | | | | |

کاهش یابد میزان کلروفیل نیز کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، همبستگی بالای بین دو صفت افت سطح برگ و کلروفیل با درصد آلودگی ظاهری تعیین کننده تأثیر زیاد این ویروس روی بوته‌های آلوده بود.

نتایج جدول ۹ به خوبی بیانگر آلودگی یا عدم آلودگی ژنوتیپ‌های لوبیا در آزمون PTA-ELISA (Plate-Trapped Antigen-Enzyme Linked Immunosorbent Assay) بود. در این جدول ژنوتیپ‌هایی که دارای واکنش مثبت بودند بیان‌کننده آلودگی ژنوتیپ به ویروس بود. ژنوتیپ‌های فاقد آلودگی به ویروس موزائیک خیار، هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌های لوبیا قرمز نبودند.

براساس جدول ۱۰ گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس واکنش به CMV انجام شد. ژنوتیپ‌هایی که دارای درصد آلودگی واقعی کمتر از ۵۰٪ و درصد آلودگی ظاهری کمتر از ۵۰٪ هستند، مقاوم ارزیابی شدند. ژنوتیپ‌های D81083، Ks 21414، Ks 31125، Capsoli، Ks 21191، Ks 31137، Cardinal، Ks 21371، Talash، AND-1007، Ks 41125، Dehghan و Local Khomein در این گروه قرار گرفتند.

جدول ۶- درصد آلودگی واقعی و ظاهری ارقام و لاین های مختلف لوبیا در اثر آلودگی با CMV

Table 6. Real and apparent infection percentage of different cultivars and lines of bean with CMV infection

| شماره ژنوتیپ Genotype No. | نام ژنوتیپ Genotype name | در صد آلودگی ظاهری Apparent infection percentage | در صد آلودگی واقعی Real infection percentage | شماره ژنوتیپ Genotype No. | نام ژنوتیپ Genotype name | در صد آلودگی ظاهری Apparent infection percentage | در صد آلودگی واقعی Real infection percentage |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | D81083 | 0.250 | 0.086 | 26 | KS 21470 | 1.000 | 0.438 |
| 2 | Daneshkadeh | 0.750 | 0.134 | 27 | Ks 31137 | 0.125 | 0.000 |
| 3 | KS 21481 | 0.875 | 0.104 | 28 | Cardinal | 0.000 | 0.000 |
| 4 | Cifem cabe | 0.625 | 0.261 | 29 | KS 41126 | 0.875 | 0.175 |
| 5 | Sayyad | 1.000 | 0.700 | 30 | Tay107 | 0.750 | 0.064 |
| 6 | Pinto | 1.000 | 0.789 | 31 | Sadaf | 0.625 | 0.201 |
| 7 | G 01437 | 0.625 | 0.333 | 32 | Ks 31107 | 1.000 | 0.708 |
| 8 | Khomein-2 | 1.000 | 0.528 | 33 | KS 41124 | 1.000 | 0.619 |
| 9 | G 14088 | 0.750 | 0.106 | 34 | KS 21371 | 0.125 | 0.094 |
| 10 | Jules | 0.750 | 0.436 | 35 | Khomein-5 | 1.000 | 0.160 |
| 11 | Akhtar | 1.000 | 0.958 | 36 | Local Ahar | 0.875 | 0.388 |
| 12 | Ks 21193 | 1.000 | 0.202 | 37 | Talash | 0.125 | 0.050 |
| 13 | Ks 31131 | 1.000 | 0.489 | 38 | AND-1007 | 0.250 | 0.028 |
| 14 | Ghalaf sefide sarab | 1.000 | 0.317 | 39 | KS 41125 | 0.000 | |
| 15 | 11805 | 1.000 | 0.050 | 40 | Ks 31128 | 1.000 | 0.687 |
| 16 | Ks 21414 | 0.000 | 0.075 | 41 | Cos16 | 1.000 | 0.599 |
| 17 | Ks 31125 | 0.375 | 0.067 | 42 | keshavarz | 1.000 | 0.972 |
| 18 | Capsoli | 0.125 | 0.025 | 43 | G5710 | 0.750 | 0.192 |
| 19 | Ks 21191 | 0.000 | 0.031 | 44 | Dehghan | 0.000 | 0 |
| 20 | Wa4502-1 | 1.000 | 0.573 | 45 | Goli | 1.000 | 0.345 |
| 21 | Local Aligoudarz | 0.625 | 0.083 | 46 | Derakhshan | 0.625 | 0.330 |
| 22 | KS 21383 | 1.000 | 0.367 | 47 | KS 41128 | 0.875 | 0.175 |
| 23 | G11867 | 0.625 | 0.346 | 48 | Naz | 1.000 | 0.288 |
| 24 | A195 | 1.000 | 0.375 | 49 | Local Khomein | 0.375 | 0.069 |
| 25 | 74 Emerson | 1.000 | 0.400 | | | | |

ژنوتیپ‌هایی که دارای درصد آلودگی واقعی بیشتر از ۵۰٪ و درصد آلودگی ظاهری کمتر از ۵۰٪ بودند نیمه مقاوم ارزیابی شدند. ژنوتیپ‌های شماره ۱۷، ۴۷، ۲۰، ۳۸، ۲۴، ۴۳، ۹، ۲۹، ۱۳،۳۵، ۳۱، ۴۵، ۱۸، ۲۷، ۴۱، ۳۳، ۱۹، ۷، ۴۶،، ۲، ۳۰، ۲۱ و ۲۸ در این گروه قرار گرفتند. ژنوتیپ‌هایی که دارای درصد آلودگی واقعی کمتر از ۵۰٪ و درصد آلودگی ظاهری بیشتر از ۵۰٪ داشتند، ۴۰، ۳ و ۲۳ بودند. این موضوع در مورد ژنوتیپ‌هایی است که علائم ویروسی مشاهده شده، با علائم مربوط به ویروس دیگر اشتباه گرفته شده است. ژنوتیپ‌هایی که دارای درصد آلودگی واقعی بیشتر از ۵۰٪ و درصد آلودگی ظاهری بیشتر از

جدول ۷- ضریب همبستگی بین صفات اندازه گیری شده در گروه‌های مختلف لوبیا به طور مجزا تحت تاثیر آلودگی به ویروس CMV

Table 7. Correlation coefficients of measured traits in different groups of bean as affected by CMV infection

| نوع لوبیا<br>Bean type | صفت<br>Trait | درصد آلودگی حقیقی<br>Real infection percentage | تغییرات میزان کلروفیل<br>Variation of chlorophyll content | تغییرات میزان سطح برگ<br>Variation of leaf area amount |
|---|---|---|---|---|
| لوبیا چیتی<br>Chiti-bean | درصد آلودگی ظاهری<br>Apparent infection percentage | 0.923** | 0.627* | 0.444** |
| | درصد آلودگی حقیقی<br>Real infection percentage | | 0.599** | 0.404** |
| | تغییرات میزان کلروفیل<br>Variation of chlorophyll content | | | 0.313 |
| لوبیا سفید<br>Mung-bean | درصد آلودگی ظاهری<br>Apparent infection percentage | 0.932** | 0.698* | 0.346 |
| | درصد آلودگی حقیقی<br>Real infection percentage | | 0.581* | 0.321 |
| | تغییرات میزان کلروفیل<br>Variation of chlorophyll content | | | 0.308 |
| لوبیا قرمز<br>Kidney-bean | درصد آلودگی ظاهری<br>Apparent infection percentage | 0.934** | 0.859** | 0.786** |
| | درصد آلودگی حقیقی<br>Real infection percentage | | 0.871** | 0.790** |
| | تغییرات میزان کلروفیل<br>Variation of chlorophyll content | | | 0.680** |

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد.

* and **: Significant at 1% and 5% levels of probability, respectively.

۵۰٪ بودند، گروه حساس نامیده شدند. ژنوتیپ‌های شماره ۴، ۴۲، ۳۶، ۵، ۲۲، ۱۰، ۲۵، ۱۲، ۳۷ و ۶ در این گروه قرار گرفتند.

ژنوتیپ‌های گروه دوم به این دلیل نیمه مقاوم ارزیابی شدند که ویروس به داخل آن‌ها نفوذ داشته ولی نتوانسته بر ژنوتیپ‌های مذکور اثری بگذارد. از این دسته ژنوتیپ‌ها می‌توان به ۲۹ (آلودگی واقعی ۱۰۰٪ و آلودگی ظاهری ۰/۰۵٪) و ۳۸ (آلودگی واقعی ۷۵٪ و آلودگی ظاهری ۰/۱۰۶٪) اشاره کرد که بر اساس گزارش مرکز تحقیقات لوبیا در خمین نیز به آزمون الیزا پاسخ مثبت داده‌اند. پس می‌توان گفت که این ژنوتیپ‌ها احتمالاً متحمل بوده‌اند.

بیماری CMV عامل محدود کننده‌ای در لوبیا سبز است (Nault *et al.,* 2006)، به طوری‌که در سال ۲۰۰۵ در نیویورک بیش از صددرصد از گیاهان در برخی از مزارع لوبیای سبز به CMV آلوده شدند (Nault *et al.,* 2006). تأثیر CMV برعملکرد لوبیا سبز می‌تواند شدید باشد اما به طور قابل توجهی به رقم (Taylor *et al.,* 2006)، شرایط محیطی و زمان آلودگی نسبت به مراحل رشد گیاه بستگی دارد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایش در مورد کاهش دو صفت میزان کلروفیل و سطح برگ پس از آلودگی و با

جدول ۸- ضریب همبستگی بین صفات اندازه گیری شده در ژنوتیپ‌های لوبیا تحت تاثیر آلودگی به CMV

Table 8. Correlation coefficients between measured traits in bean genotypes as affected by CMV infection

| صفت<br>Trait | درصد آلودگی ظاهری<br>Apparent infection percentage | تغییرات میزان سطح برگ<br>Variation of leaf area amount | تغییرات میزان کلروفیل<br>Variation of chlorophyll content |
|---|---|---|---|
| Real infection percentage | 0.685** | 0.347* | 0.725** |
| Apparent infection percentage | | 0.632** | 0.745** |
| Variation of leaf area amount | | | 0.484** |

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد.

* and **: Significant at 1% and 5% levels of probability, respectively.

مرور منابع تائید شد که در بررسی گیاهان خیار در دو شرایط آلودگی و عدم آلودگی به وسیله ویروس CMV (Shakeel *et al.,* 2016) میزان کلروفیل در ارقام مقاوم معنی‌دار نبوده است. همچنین در تحقیقی روی *V. faba* آلوده شده با BYMV رنگدانه‌ها و کربوهیدرات‌ها به ترتیب با گذشت زمان نشان‌دهنده کاهش و افزایش بودند. همچنین بررسی دیگری بر روی آلودگی *P. vulgaris* با BYMV بیان کننده ۱) کاهش در رنگدانه‌ها و کربوهیدارت‌ها با گذشت زمان نسبت به این بیماری و ۲) ثابت بودن پروتئین، مقدار کلروفیل b، کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدهای آزاد بود که تائید کننده نتایج تحقیق حاضر است. با بررسی گیاهان هویج آلوده شده به CMV در ۱۲ و ۱۸ روز پس از کاشت مشخص شده است که کلروفیل گیاهانی که زودتر تحت تنش بیماری قرار گرفته‌اند نسبت به گیاهانی که دیرتر تحت تنش بیماری قرار گرفته بودند کاهش داشتند و این موضوع بدان مفهوم است که با حمله ویروس در مراحل ابتدایی رشد گیاه میزان کلروفیل a، کلروفیل b و بتاکاروتن‌ها در برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ‌های بدون آلودگی کاهش یافته و درنتیجه میزان فتوسنتز و خسارت به گیاه افزایش می‌یابد (Bushra *et al.,* 2011). نتایج مشابهی توسط آکاندا و همکاران (Akanda *et al.,* 1998) از کاهش کلروفیل و بتاکاروتن در آلودگی گیاه بامیه و گوجه‌فرنگی به ترتیب با ویروس‌های YVMV و CMV به دست آمده است. بررسی‌های دیگر نیز تائیدکننده کاهش محتوای کلروفیل توسط ویروس‌های مختلف در گیاهان آلوده شده است (Arora *et al.,*2009؛ Pineda *et al.,* 2008؛ Srivastava *et al.,* 2005؛ Milavec *et al.,* 2001). آلودگی ویروسی علاوه بر فتوسنتز روی تنفس نیز نقش دارد به طوری‌که سبب افزایش تولید پروتئین‌های غیرطبیعی جهت سنتز اجزای ویروسی مورد نیاز خود شده و در نهایت منجر به کاهش تولید سطح کربوهیدرات‌های برگ

جدول ۹- واکنش ژنوتیپ‌های لوبیا به آزمون PTA-ELISA
Table 9. Reaction of bean genotypes to PTA-ELISA

| شماره ژنوتیپ Genotype No. | واکنش به الایزا Reaction to ELISA | شماره ژنوتیپ Genotype No. | واکنش به الایزا Reaction to ELISA | شماره ژنوتیپ Genotype No. | واکنش به الایزا Reaction to ELISA | شماره ژنوتیپ Genotype No. | واکنش به الایزا Reaction to ELISA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | + | 14 | + | 27 | + | 40 | + |
| 2 | + | 15 | + | 28 | − | 41 | + |
| 3 | + | 16 | − | 29 | − | 42 | + |
| 4 | + | 17 | + | 30 | + | 43 | + |
| 5 | + | 18 | + | 31 | + | 44 | − |
| 6 | + | 19 | − | 32 | + | 45 | + |
| 7 | + | 20 | + | 33 | + | 46 | + |
| 8 | + | 21 | + | 34 | + | 47 | − |
| 9 | + | 22 | + | 35 | + | 48 | + |
| 10 | + | 23 | + | 36 | + | 49 | + |
| 11 | + | 24 | + | 37 | + | | |
| 12 | + | 25 | + | 38 | + | | |
| 13 | + | 26 | + | 39 | − | | |

+ واکنش مثبت
- واکنش منفی

+ Positive reaction
- Negative reaction

گیاه می‌شود (Goodman *et al.,* 2008؛ Handford and Carr, 2007؛ Goncalvez *et al.,* 2005؛ Ashraf and Zafar, 2000). کاهش مقدار کربوهیدرات‌ها می‌تواند به دلیل کاهش و یا شکسته شدن سریع کربوهیدرات‌ها به واسطه افزایش تنفس و تبدیل کربوهیدرات‌ها به آمینواسیدها باشد که برای سنتز پروتئین به مقدار بسیار زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاهش کربوهیدرات‌ها توسط آلودگی ویروسی می‌تواند به دلیل افزایش آسیب به وجود آمده در کلروفیل به واسطه افزایش یافتن دوره و زمان آلودگی در گیاه باشد (Murphy *et al.,* 2001). برای مثال CMV در تعرق گیاه باعث ایجاد تغییراتی از قبیل کاهش سطح برگ، کاهش کلروفیل، کاهش روزنه‌ها شده و سبب ایجاد علائم بیماری در برگ‌های گیاه می‌شود، همچنین TYMV در کلم چینی سبب کاهش واکنش روزنه‌ها به شدت نور شده که خود عامل کاهش تعرق است (Bedbrook and Mathews, 1973) اما با این تفاسیر آلودگی ویروسی می‌تواند سبب تغییرات فیزیولوژیکی وسیعی در اکثر گیاهان میزبان از جمله تغییرات محتوای آب بافت‌ها، سنتز و انتقال متابولیت‌ها شود (Hull, 2002). آلودگی با CMV نشان دهنده افزایش مقدار آب بافت‌های سطح زمین است که این نگهداری آب با کاهش باز شدن روزنه‌ای و سرعت کم تعرق در گیاهان آلوده شده به ویروس مرتبط است. این مطلب در تائید نتایج به دست آمده

جدول ۱۰- واکنش ژنوتیپ‌های لوبیا به ویروس موزائیک خیار (CMV)

Table 10. Response of bean genotypes to *Cucumber mosaic virus*: CMV

| شماره ژنوتیپ<br>Genotype No. | نوع لوبیا<br>Bean type | | واکنش<br>Response | شماره ژنوتیپ<br>Genotype No. | نوع لوبیا<br>Bean type | | واکنش<br>Response |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Kidney-bean | قرمز | R | 26 | Mung-bean | سفید | R |
| 2 | Kidney-bean | قرمز | MR | 27 | Mung-bean | سفید | MR |
| 3 | Kidney-bean | قرمز | MR | 28 | Mung-bean | سفید | MR |
| 4 | Kidney-bean | قرمز | S | 29 | Mung-bean | سفید | MR |
| 5 | Kidney-bean | قرمز | S | 30 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 6 | Kidney | قرمز | S | 31 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 7 | Kidney | قرمز | MR | 32 | Chiti-bean | چیتی | R |
| 8 | Kidney | قرمز | R | 33 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 9 | Kidney | قرمز | MR | 34 | Chiti-bean | چیتی | R |
| 10 | Kidney | قرمز | S | | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 11 | Kidney | قرمز | R | 36 | Chiti-bean | چیتی | S |
| 12 | Kidney | قرمز | S | 37 | Chiti-bean | چیتی | S |
| 13 | Kidney | قرمز | MR | 38 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 14 | Kidney | قرمز | R | 39 | Chiti-bean | چیتی | R |
| 15 | Kidney | قرمز | R | 40 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 16 | Mung-bean | سفید | R | 41 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 17 | Mung-bean | سفید | MR | 42 | Chiti-bean | چیتی | S |
| 18 | Mung-bean | سفید | MR | 43 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 19 | Mung-bean | سفید | MR | 44 | Chiti-bean | چیتی | R |
| 20 | Mung-bean | سفید | MR | 45 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 21 | Mung-bean | سفید | MR | 46 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 22 | Mung-bean | سفید | S | 47 | Chiti-bean | چیتی | MR |
| 23 | Mung-bean | سفید | MR | 48 | Chiti-bean | چیتی | R |
| 24 | Mung-bean | سفید | MR | 49 | Chiti-bean | چیتی | R |
| 25 | Mung-bean | سفید | S | | | | |

R: Resistant مقاوم — MS: Moderately Susceptible نیمه حساس

MR: Moderatly Resistant نیمه مقاوم — S: Susceptible حساس

توسط Bedbrook and Mathews (1973) و دیگر محققان (Keller *et al.,* 1989؛ Lindsey and Gudauskas, 1975؛ Hall and Loomis, 1972) نیز هست. یکی دیگر از واکنش‌های فیزیولوژیک بیماری افزایش سطوح گلوکز، فروکتوز و ساکاروز، کاهش اندازه (Hull, 2002) و افزایش اسید سالیسیلیک که ترکیبی دفاعی است و باعث افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی می‌شود است (Singh and Usha, 2003). CMV سبب تحریک مسیر اسید سالیسیلیک شده و منجر به مقاومت سیستمیک در بسیاری از گیاهان می‌شود (Murphy *et al.,* 2001). القای این مسیر سبب تولید ترکیباتی از قبیل گلیکولیز

ایریدوئید می‌شود که در اکثر گیاهان باعث در امان ماندن گیاه از حمله‌های عوامل بیماریزا می‌شود (Marak *et al.,* 2002؛ Bowers *et al.,* 1992).

آلودگی در مراحل اولیه رویشی گیاه سبب از دست رفتن بیشتر عملکرد نسبت به آلودگی در ابتدای مرحله زایشی می‌شود (Walkey, 1991؛ Jones *et al.,* 2008) نتایج مشابه دیگری تائید کننده این مطالب هستند (Ittah, 2006). کامل منش و همکاران (Kamelmanesh *et al.,* 2012) درباره آلودگی بیماری BCMV در ژنوتیپ های لوبیا بیان کردند که این بیماری کاهش دوره رویشی (Ittah, 2006) و عدم تأثیر بر روی دوره زایشی گیاه داشته است. همچنین آلودگی گیاهان در ابتدای مرحله رشد معمولاً به ظهور شدید علائم بیماری در ویروس‌های SMV (Schulz *et al.,* 1983)، PLRV (Storch and Manzer, 1985) و BCMV (Kamelmanesh *et al.,* 2009؛ Gupta and Chowfla, 1987) منجر می‌شود. آلودگی BCMV در مراحل اولیه گیاه نسبت به ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی در شرایط بدون تنش در بررسی انجام شده توسط کامل‌منش و همکاران (Kamelmanesh *et al.,* 2012, 2008) نشان‌دهنده معنی‌دار شدن تفاوت بین ژنوتیپ‌ها بود که این موضوع می‌تواند به دلیل شوک ابتدایی وارده توسط ویروس باشد که واکنش‌های متفاوت ژنوتیپ‌ها را در شرایط آلودگی به همراه داشته است. از بین رفتن عملکرد ارقام در شرایط آلودگی، نتیجه‌ای از کاهش تعداد و وزن غلاف‌ها و دانه‌های تولید شده توسط گیاه است. نتایج مشابهی کاهش مقدار و تعداد میوه‌ها را در گاوپنبه (Cowpea) آلوده به BYMV و BCMV گزارش شده است (Hampton *et al.,* 1997).

انتشار CMV در مزارع لوبیا می‌تواند به شدت انتشار ناقل اصلی بیماری یعنی شته *A. glycines* مرتبط باشد (Shah *et al.,* 2006؛ Gildow *et al.,* 2008) در نتیجه یکی از راه‌های کنترل این بیماری می‌تواند استفاده از حشره‌کش‌های سیستمیک باشد که در نهایت با شکست مواجه می‌شود (Nault and Taylor, 2003)، همچنین یک راهکار دیگر شاید اسپری کردن حشره‌کش‌ها بر روی برگ‌های گیاه باشد که سطوح انتشار بیماری CMV را کاهش دهد، اما این مورد در آزمایش‌های مزرعه‌ای لوبیا در ویسکانسین آمریکا کاهش این بیماری را نشان نداد (Wyman and Chapman, 2004). شدت بیماری‌های ویروسی در اندازه وسیع را مقدار مایه تلقیح و زمان آلودگی تعیین می‌کند. مقدار مایه تلقیح خود تابعی از گیاهان میزبان باقیمانده از زمستان سال قبل است که این گیاهان می‌توانند ویروس و ناقلین ویروس‌ها را به فصل بعد منتقل کنند (Irwin *et al.,* 2000؛ Jayasena and Randles, 1994) پس کنترل

کردن موارد ذکر شده در بالا نیز می‌تواند یکی از راه‌های کنترل این بیماری باشد.

در نهایت به منظور مبارزه با بیماری‌های ویروسی استفاده از ارقام مقاوم به دلیل عدم مشکلات آلودگی محیط زیست و مقرون به صرفه بودن، امروزه بسیار مورد توجه است (Shah *et al.*, 2006). برای پذیرش ارقام جدید توسط زارعین و جهت توجیه تلاش‌های به نژادی برای تولید ارقام نیمه حساس به تنش، لاین‌های اصلاح شده برای یک منطقه به خصوص باید در شرایط تنش و بدون تنش دارای عملکرد پایدار و بیش از ارقام مورد کشت زراعین باشد (Bagheri *et al.*, 2001). هم اکنون مشخص شده است که ارقام با ژن‌های مقاومت مختلف دارای مقاومت‌های متفاوتی در برابر طیف وسیعی از سویه‌های ویروس هستند و با توجه به این که ویروس‌ها به عنوان یکی از عوامل کاهش دهنده محصول (عملکرد) در لوبیا شناخته می‌شوند باید نسبت به کنترل آن‌ها توجه خاصی را مبذول داشت. اصلاح و تهیه ارقام مقاوم به یکی از راه‌های و اساسی برای کنترل بیماری‌های مهم حبوبات است به طوری که ارقامی در جبوبات توسعه یافته‌اند که به یک یا چند بیماری مقاوم هستند، خواه مقاومت مونوژنیک باشد یا الیگوژنیک (Nadernejad and Gupta, 2010). بدین منظور لاین‌های مولتی ژن CMV مختلفی با تلاقی بین نمونه‌های بسیار زیاد لوبیا از قبیل Scarlet و Runner و همچنین *P. coccineus* یا *P. vulgaris* انجام و اصلاح شده است که تا کنون در بین لاین‌های تجاری برای بهبود خصوصیات و صفات زراعی مورد تلاقی برگشتی قرار می‌گیرند. تا زمانی که ارقام مقاوم و تجاری در دسترس باشند، شناسایی ارقام نیمه حساس به CMV برای کاهش دادن عملکرد بالقوه از دست رفته می‌توانند مفید باشد (Griffiths, 2007)، اما در صورت عدم وجود منابع و ذخایر گیاهی القاء کننده مقاومت با پایداری و سطح بالا در برابر بسیاری از بیماری‌ها، تلاش‌های به‌نژادی نمی‌تواند نتایج مطلوبی را در برداشته باشد. این موضوع کاملاً مشابه با مقاومت در برابر آفات و حشرات مهم است که تاکنون موفقیت چندانی در آن به دست نیامده است (Nadarajan and Gupta, 2010).

## References

**Akanda, A. M., Alam, N., Khair, A., and Muquit, A., 1998.** Altered metabolism of tomato leaves due to *Cucumber mosaic virus*. Bangladesh Journal Science Research 16(1): 1-6.

**Anonymous 2016.** Agricultural Crops Statitics of Iran. Ministry of Agricultural Jihade, Tehran, Iran (in Persian).

**Arora, R., Joshi, U. M., Gupta, P. P., and Singh. J. V. 2009.** Effect of *Yellow mosaic virus* on pathogenesis related enzymes and chlorophyll content in mothbean (*Vigna aconitifolia*). Acta Phytopathologica Entomologica Hungarica 44: 49-60.

**Ashraf, M., and Zafar, Z. U. 2000.** Patterns of free carbohydrate and starch accumulation in leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivars differing in resistance to *Cotton leaf curl virus*. Archive of Agronomy Soil. Sciences 45: 1-9.

**Bagheri, A., Mahmodi, A., and Ghezeli, F. 2001.** Common Beans: Research for Crop Improvement. Jihad-e-Daneshgahi, University of Mashhad, Mashhad, Iran. 556pp. (in Persian).

**Bedbrook, J. R., and Mathews, R. E. F. 1973.** Change in the flow of early products of photosynthetic carbon fixation associated with replication of TYMV. Virology 53: 84-91.

**Bos, L., and Matt, D.Z. 1974.** A strain of *Cucumber mosaic virus*, seed transmitted in beans. Netherlands Journal of Plant Pathology 80:113-23.

**Bowers, M. D., Stamp, N. E., and Collinge, S. K. 1992.** Early stage of host range expansion by a specialist herbivore, *Euphdryas phaeton* (Nymphalidae). Ecology 73: 526-536.

**Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., and Vanderleyden, J. 2004.** Beans (*Phaseolus* spp.) model food legumes. Plant and Soil 252: 55-128.

**Bruckart, W. L., and Lorbeer, J. W. 1976.** *Cucumber mosaic virus* in weed hosts near commercial fields of lettuce and celery. Phytopathology 66: 253-239.

**Bushra, A., Gulfishan, G., Baghel, G., Fatma, M., Akil Khan, A., and Naqvi, Q. A. 2011.** Molecular detection of a virus infecting carrot and its effect on some cytological and physiological parameters. African Journal of Plant Science 5(7): 407-411.

**Chiang, Y., Ge, C., Chou, X. J., Wu, C. H., and Chiang, W. L. 2002**. Nucleotide sequence diversity at the methionine synthase locus in endangered *Dunnia sinessis* (Rubiaceae): an evaluation of the positive selection hypothesis. Molecular Biology Evolution 19: 1367-1375.

**Collmer, C. W., Marston, M. F., Taylor, J. C., and Jahn, M. 2000.** The I gene of bean: A dosage-dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitivity resistance or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus Bean common mosaic virus. Molecular Plant-Microbe Interaction 13: 1266-1270.

**Davis, R. F., and Hampton, R. O. 1986.** *Cucumber mosaic virus* isolates seed borne in *Phaseolus vulgaris*: serology, host pathogen relationships and seed transmission. Phytopathology 76: 999-1004.

**Edwardson, J. R., and Christie, R. G. 1991.** *Comoviruses*. Handbook of Viruses Infecting Legumes, CRC, Boca Ratin, Florida, USA.

**Etebarian, H. R. 2002.** Diseases of Vegetables and Summer Crops and Their Control Methods. University of Tehran Publications, Tehran, Iran. 600 pp. (in Persian).

**Funayama-Noguchi, S., and Terashima, I. 2006.** Effects of *Eupatorium yellow vein virus* infection on photosynthetic rate, chlorophyll content and chloroplast structure in leaves of Eupatorium makinoi during leaf development. Functional Plant Biology 33: 165-175.

**Gallitelli, D. 2000.** The ecology of *Cucumber mosaic virus* and sustainable agriculture. Virus Research 71: 9-21.

**Garcı´a-Arenal, F., and Palukaitis, P. 2008.** *Cucumber mosaic virus*. In: Gar cı´a-Arenal, F., Palukaitis, P., Mahy, B. W. J., and Van Regenmortel, M. H. V. (eds). Encyclopedia of Virology, 3rd ed. Academic Press, Oxford, UK.

**Gebeyehu, S., Simane, B., and Kirkby, R. 2006.** Genotype cropping system interaction and climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown as sole crop and in association with maize (*Zea mays* L.) European Journal of Agronomy 24: 396-403.

**German, T. L., Thompson, A., and Willis, D. K. 2004.** State wide distribution of virus problems on processing beans. In: Proceedings of the 2004 Wisconsin Fertilizer, Aglime and Pest Management Conference, USA, 43: 291-293.

**Gildow, F.E., Shah, D.A., Sackett, W.M., Betzler, T., Nault, B.A., and Fleischer, S.J. 2008.** Transmission efficiency of *Cucumber mosaic viruses* by aphids associated with virus epidemics in snap-bean. The American Phytopathological Society 98 (11): 1233-1241.

**Goncalves, M. C., Vega, J., Oliviera, J. G., and Gomes, M. H. A. 2005.** *Sugarcane yellow leaf virus infection* leads to attentions in photosynthetic efficiency and carbohydrate accumulation in sugarcane leaves. Fitopatology 30: 10-16.

**Goodman, P.J., Watson, M.A., and Hill, A.R.C. 2008.** Sugar and fractosan accumulation in virus-infected plants: rapid testing by circular-paper chromatography. Annals of Applied Biology 56: 65-72.

**Graham, P. H., and Vance, C. P. 2003.** Legumes: importance and constraints to greater use. Plant Physiology 131:872-877.

**Grau, C. R., Mondjana, A., and Stevenson, W. R. 2001.** Status of virus-like problems on processing snap beans in Wisconsin during 2000. In: 2001 Midwest Food Processor Association, Inc. Processing Crops Manual and Proceedings 13: 43-48.

**Griffiths, P. 2007.** Breeding snap bean resistant to aphid transmitted viruses. pp. 171-173. In: Proceedings of the 2007 Empire State Fruit and Vegetable EXPO, Cornell Coop. Exten., Syracuse, NY, USA.

**Gupta, Y., and Chowfla, S. C. 1987.** Susceptibility of French *Bean to bean mosaic virus* in relation to plant age, population and age of *Mycus persica*. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology 17: 93-94.

**Hall, A. E., and Loomis, R. S. 1972**. An explanation for the difference in phytosynthetic capabilities of healthy and beet yellows virus-infected sugar beets (*Beta vulgaris* L.). Plant Physiology 50: 576-580.

**Hall, R. 1991.** Compendium of Bean Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

**Hampton, R. O., Thottapilly, G., and Rossel, H. W. 1997.** Viral disease of cowpea and their control by resistance-conferring genes. pp. 159-175. In: Advanced In Cowpea Research. Co-Publication of IITA and Japan IR center for Agriculture Science, (JIRCAS). IITA, Ibadan Nigeria.

**Handford, M. G., and Carr, J. P. 2007.** A defect in carbohydrate metabolism ameliorates symptom severity in virus-infected *Arabidopsis thaliana*. Journal of General Virology, 88: 337-341.

**Hemida, S. K. 2005.** Effect of *Bean yellow mosaic virus* on physiological agricultures of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris*. International Journal of Agriculture and Biology 7(2): 154-157.

**Hong, J. S., Ohnishi, S., Masuta, C., Choi, J. K., and Ryu, K. H. 2007.** Infection of soybean by cucumber mosaic virus as determined by viral movement protein. Archive of Virology 152: 321-328.

**Hull, R. 2002.** Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. Evolution 50: 54-70.

**Irwin, M. E., Ruesink, W. G., Isard, S. A., and Kampmeier, G. E. 2000.** Migitation epidemics caused by non-persistently transmitted aphid-borne viruses: The role of the plant environment. Virus Research 71: 185-211.

**Ittah, M. A. 2006.** Relationship between yield and some yield components in cowpea varieties infected with two cowpea potyvirus. Global Journal of Pure and Applied Sciences 12(1): 11-17.

**Jayasena, K. W., and Randles, J. W. 1994.** Patterns of spread of the non-persistently transmitted subterranean *Clover red leaf virus* in *Vicia faba*. Annals of Applied Biology 104: 249-260.

**Jones, R. A. C., Coutts, B. A., Latham, L. J., and McKirdy, S. J. 2008**. *Cucumber mosaic virus* infection of chickpea stands: temporal and spatial patterns of spread and yield limiting potential. Plant Pathology 57: 842-853.

**Jones, R. A. C., and Latham, L. J. 1996.** Natural resistance to *Cucumber mosaic virus* in lupin species. Annals of Applied Biology 129: 523-42.

**Kamelmanesh, M. M. 2006.** Resistance genetic and damage methods of *Common bean mosaic virus* (BCMV) in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph.D. Thesis, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (in Persia).

**Kamelmanesh, M. M., Dorri, H. R., Ghasemi, S., Bihamta, M. R., and Darvish, F. 2008.** Gene action for resistance to *Bean common mosaic virus* (BCMV) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Filed Crops Research 6(2): 363-370.

**Kamelmanesh, M. M., Ghasemi, S., and Namayandeh, A. 2009.** Path analysis between grain yield and some agronomical traits in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under control and infection condition by *Common bean mosaic virus* (BCMV). Phytopathology Journal 1(1): 57-70.

**Kamelmanesh, M.M., Namayandeh, A., Dorri, H. R., and Bihamta, M.R. 2012.** Effects on *Bean common mosaic virus* on seed yield, yield components and phenological phases on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under field conditions. Seed and Plant Improvement Journal 28-1(1): 39-52.

**Keller, P., Luttge, U., Wang, X-C., and Buttner, G., 1989**. Influence of rhizomania disease on gas exchange and water relations of a susceptible and tolerant sugar beets variety. Physiological and Molecular Plant Pathology 34: 379-392.

**Koskela, T., Puustinen, S., Salonen, V., and Mutikainen, P. 2002.** Resistance and tolerance in a host plant holoparastic plant interaction: genetic variation and costs. Evolution 56: 899-908.

**Kostova, Z., Tsai, Y. C., and Weissman, A. M. 2007.** Ubiquitin ligases, critical mediators of endoplasmic reticulum-associated degradation. Semin. Cell Biology 18: 770-779.

**Larsen, R. C., Mikals, P. N., Eastwell, K. C., and Grau, C. R. 2008.** A strain of *Clover yellow vein virus* that cause several pod necrosis diseases in snap bean. Plant Disease 92: 1026-1032.

**Lindsey, D. W., and Gudauskas, R. T. 1975.** Effect of *Maize dwarf virus* on water relation of corn. Phytopathology 65: 434-440.

**Liu, J. J., and Ekramoddoullah, A. K. M. 2003.** Isolation, genetic variation and expression of TIR-NBS-LRR resistance gene analogs from Western pie (*Pinus monticola* Dougl. Ex. D. Don.). Molecular Genetics Genomics 270: 432-441.

**Marak, H. B., Biere, A., and Van Damme, J. M. M. 2002.** Systemic genotype-specific induction of herbivore-deterrent iridoid glycosides in *Plantago lancealata* L. in response to fungal infection by *Diaporthe adunca* (Rob.) Niesel. Journal of Chemical Ecology 28: 2429-2448.

**Mavarie, I., and Sustar-vozilic, J. 2004.** Virus diseases and resistance to *Bean common mosaic* and *Bean common mosaic necrosis potyvirus* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Acta Agriculturae Slovenica 83: 181-190.

**Mehraban, A. H., Pourdavai, H., Beyzaiem, A., Mostaed, M., and Bananj, K. 2003.** Genetic resources detection of bean resistance to three important viruses of bean (CMV, BYMV and BCMV). Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress, pp. 516, Kermanshah, Iran. Page 516 (in Persian).

**Michell, E., German, T., and Nienhuis, J. 2007.** Introgression of CMV resistance into snap bean. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative. Volume 50. The Fifth Anniversary Report of the Bean Improvement Cooperative.

**Milavec, M., Ravnikar, M., and Kovac, M. 2001**. Peroxidases and photosynthetic pigments in susceptible potato infected with potato virus TNTY. Plant Physiology, Biochemical, 39: 891-898.

**Morrison, J. A. 1996**. Infection of Juncus dichotomus by the smut fungus Cintractiajunci: an experimental field test of the effects of neighboring plants, environment and host plant genotype. Journal of Ecology 84: 691-702.

**Murphy, A. M., Gilliland, A., Engwong, C., West, J., Singh, D. P., and Carr J. P. 2001**. Signal transduction in resistance to plant viruses. European Journal of Plant Pathology 107: 121-128.

**Nadarajan, N., and Gupta, G. 2010.** Role pf classical breeding improvement of pulse crops. Electronic Journal of Plant Breeding 1(4): 1099-1106.

**Nault, B. A., Shah, A., and Taylor, A. G. 2006.** Viruses and aphids everwhere in New York snap bean fileds in 2005, pp. 74-76. In: Processings of the 2006 Empire State Fruit and Vegetable EXPO, Cornell Cooperation, Extension, Syracuse, NY, USA.

**Nault, B. A., Shah, D. A., Dillard, H. R., and McFaul, A. C. 2004.** Seasonal and spatial dynamics of alate aphid dispersal in snap bean fields in proximity to alfalfa and implications for virus management. Environment Entomology 33: 1593-601.

**Nault, B. A., and Taylor, A. G. 2003.** Evaluation of seed treatment and foliar sparys to control leafhoppers and the incidence of viruses in snap bean, pp. 79-83. In: Proceeding of the 2003 New York State Vegetable Conference, Cornell Cooperation, Extension And NY State Veg. Growers Assoc., Liverpool. NY, USA.

**Palukaitis, P., Roossinck, M. J., Dietzgen, R. G., and Francki, R. I. B. 1992.** *Cucumber mosaic virus*. Advanced Virus Research 41: 281-348.

**Pandey, S., and Joshi, R. D. 1989.** Effect of cucumis virus-3 infection on chlorophyll content, chloroplast number and chlorophyllase activity on bitter gourd. Indian Phytopathology 42: 549-550.

**Pineda, M., Soukupova, J., Matius, K., Nedbal, L., and Baron, M. 2008.** Convential and combinatorial chlorophyll fluorescence imaging of tomato virus-infected plants. Photosynthetica 46: 441-451.

**Pink, D. A. C. 1987.** Genetic control of resistance to *Cucumber mosaic virus* in Cucurbita pepo. Annals of Applied Biology 111: 425-432.

**Pio-Ribeiro, G., Wyatt, S. D. A, and Kuhn, C. W. 1978.** Cowpea stunt: a disease caused by a synergistic interaction of two viruses. Phytopathology 68: 1260-1265.

**Rist, D. L., and Lorbeer, J. W. 1991.** Relationships of weed reservoirs of *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Broad bean wilt virus* (BBWV) to CMV and BBWV in commercial lettuce fields in New York. Phytopathology 81: 367-71.

**Schulz, G. A., Irwin, M. E., and Goodman, R. M. 1983.** Factors affecting aphid acquisition and transmission of *Soybean mosaic virus*. Annals of Applied Biology 103: 87-96.

**Seo, Y. S., Rojas, M. R., Lee, J. Y., Lee, S. W., Jeon, J. S., Ronald, P., Lucas, W. J., and Gilbertson, R. L. 2006.** A viral resistance gene from common bean functions across plant families and is up-regulated in anon-virus specific manner. Proceedings of the National Academic Science, USA 103: 11856-11861.

**Shah, D. A., Dillards, H. R., Mazumdar-Leighton, S., Gonsalves, D., and Nault, B. A. 2006.** Incidence spatial patterns and association among viruses in snap bean and alfalfa in New York. Plant Disease 90: 203-210.

**Shakeel, M. T., Amer, M. A., Al-Saleh, M. A., Ashfaq, M., and Haq, M. I. 2016.** Changes in chlorophyll, phenols, sugars and mineral contents of cucumber plants infected with *Cucumber mosaic virus*. Journal of Phytopathology and Pest Management 3(1): 1-11.

**Simms, E. L., and Triplett, J. 1994.** Costs and benefits of plant responses to diseases: resistance and tolerance. Evolution 48: 1973-1985.

**Singh, B., and Usha, K. 2003.** Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedling under water stress. Plant Growth Regulation 39: 137-141.

**Spence, N. J., and Walkey, D. G. A. 1995.** Variation for pathogenicity among isolates of *Bean common mosaic virus* in Africa and a reinter pretation of the genetic relationship between cultivars of *Phaseolus vulgaris* and pathotypes of BCMV. Plant Pathology 44: 527-46.

**Srivastava, A. K., Shukla A., Srivastava, G., Ansari, A., Mishra, V. A., and Tiwari, J. P. 2005.** Influence of a mosaic virus on chlorophyll content on chilli (*Capsicum annuum*). Vegeto 18(1,2): 161-162.

**Storch, R. H., and Manzer, F. E. 1985.** Effect of times and date of inoculation, plant age and temperature on translocation of *Potato leaf roll virus* into potato tubers. Annuals Potato Journal, 62: 137-144.

**Taiwo, K. A., Angersbach, A., Ade-Omowayer, B. I. O., and Knorr, D. 2001.** Effects of parameters on the diffusion kinetics and some quality parameters of osmotically dehydrated apple slices. Journal of Agriculture Food Chemistry 49: 2804-2811.

**Takahashi, H., Miller, J., Nozaki, Y., Sukamto, T. M., Shah, J., Hase, S., Ikegami, M., Ehara, Y., and Dinesh-Kumar, S. P. 2002.** *RCY1*, an *Arabidopsis thaliana* RPP8/HRT family resistance gene, conferring resistance to *Cucumber mosaic virus* requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism. Plant Journal 32: 655-67.

**Thrall, P. H., Burdon, J. J., and Young, A. 2001**. Variation in resistance and virulence among demes of a plant host-pathogen meta-population. Journal of Ecology 89: 736-748.

**Todorovic, J., Vasic´, M., and Todorovic´, V. 2008.** Dry and Spring Bean. Grafomark, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Faculty of Agriculture, Banja Luka, Serbia and BiH.

**Tomlinson, J. A., and Karter, A. L. 1970.** Studies on the seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in chickweed (*Stellaria media*) in relation to the ecology of the virus. Annals of Applied Biology 66: 381-386.

**Walkey, D. 1991.** Applied Plant Virology, 2nd ed. Hapman and Hall, New York, USA.

**Wang, H. L., Sudarshana, M. R., Gilbertson, R. L., and Lucas, W. J. 1999.** Analysis of cell-to-cell and long-distance movement of a *Bean dwarf mosaic geminivirus-green* fluorescent protein reporter in host and nonhost species: identification of sites of resistance. Molecular Plant Microbe Interaction 12: 345-355.

**Wyman, J., and Chapman, S. 2004.** Insecticide seed treatments for snap bean (http://www.soils.wisc.edu/extension/FAPM/2004proceedings/Wyman2.pdf).

**Yang, Y., Kim, K.S., and Anderson, E.J. 1997.** Seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in spinach. Phytopathology 87: 924-31.